

生物素连接酶(BirA)

产品名称：生物素连接酶(BirA)

产品规格：100ug/500ug/1mg

产品货号：ATB08011

储存条件：-20℃，12 个月

产品简介：

生物素连接酶(Biotin Ligase,BirA)是大肠杆菌 BirA 基因编码的双功能蛋白质，能识别蛋白质分子的特异性序列(BirA Substrate Peptide),使蛋白质生物素化。该酶带有 6his 标签，剪切反应完毕后可通过 Ni-NTA 去除。

产品信息：

浓度：1mg/ml

酶活：> 7.5kU/mg

最适合酶活 pH：8.0-9.0(可操作范围 6.0-9.0)

最适酶活温：37℃（温度范围 0-37℃）

辅助因子：5-10mM Mg²⁺

储存缓冲液：20mM Tris, 20mM NaCl, 2mM MgCl₂, 10%Glycerol, pH8.0

酶活定义：

37℃，pH 8.0 反应条件下，将 1pmol 蛋白质或者多肽（融合 BSP 序列）生物素化所需要的酶量定义为一个活性单位(U)。

适用范围：

生物素标记融合 BSP 的蛋白质

反应体系：

反应物组成	体积	终浓度
生物素连接酶	0.17ul	6.4ng/ul
10X Buffer A	2.5ul	1X
10X Buffer B	2.5ul	1X
蛋白（多肽）底物	1nmol	40uM
dH2O	Up to 25ul	

总体积 25ul，于 30℃ 孵育 30 ~ 40 min 使底物完全生物素化。

注意事项：

1) 本产品的底物为 AviTag 融合蛋白。

2) Buffer A 和 Buffer B 已经针对生物素化反应进行优化，底物浓度不超过 40 μ M。如果底物浓度达 40~80 μ M，则要加入额外的生物素，反应如下：1 份 10 $\times$ Buffer A，1 份 10 $\times$ Buffer B，7 份酶底物混合物和 1 份 D-Biotin。如果底物浓度超过 80 μ M，请酌情用 10 mM Tris-HCl, pH 8.0 稀释底物。

3) 在相同的酶量下，高浓度的底物（高至 40 μ M）可以保证快速完成生物素化，底物浓度越低，生物素化所需时间越长。使用相同量的生物素连接酶，40 μ M 底物可以在 30 分钟内完成生物素化，而 4 μ M 底物则需要 5 小时。如果需要在 30 min 内使 4 μ M 底物完成生物素化，相同的底物量应加入 10 倍量的酶。

4) 如底物蛋白（多肽）需保存在较低温度时，可适当降低反应温度并应延长酶促反应时间。

5) 氯化钠（>100 mM）、甘油（>5% W/V）、硫酸铵（>50 mM）等许多常见的缓冲液成分会抑制生物素连接酶的活性。当底物蛋白（多肽）确有必要使用这些试剂时，应尽量降低浓度。

6) 底物中可含有 Tris(pH 8.0)，最佳浓度为 10 mM，不超过 50 mM。

***本试剂仅供实验室研究使用**